

明 細 書

ピリミジン代謝活性測定製剤

5

技術分野

本発明は、抗癌剤である 5-フルオロウラシルを始めとする各種のピリミジン系薬物に対する個々被験者の感受性を評価判断するのに有用な製剤に関する。より詳細には、本発明は当該ピリミジン系薬物の代謝に寄与するピリミジン代謝系酵素の生体内での活性を呼気や尿等を利用して簡便に測定するための製剤に関する。

10

また、本発明はかかる製剤を利用して生体内のピリミジン代謝活性を簡便に測定する方法、並びに個々被験者のピリミジン代謝活性（ピリミジン系薬物感受性）を評価する方法に関する。

15

さらに本発明はピリミジン系薬物の投薬前に、上記製剤を利用して個々被験者のピリミジン代謝活性を評価することによって、個々被験者に適したピリミジン系薬物の投薬方法（投薬処方、投与量、投与回数等）を設定する方法に関する。

背景技術

ピリミジン系薬物の中でも、5-フルオロウラシル（以下、5-FUともいう）及びその各種の誘導体（テガフル、カルモフル、ドキシフルリジンなど）は、現在最も広く使用されている抗癌剤である。

5-FUは、主に肝臓において、ピリミジン代謝系酵素の作用で分解され不活性化される。具体的には、5-FUはまずジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ（DihydroPyrimidine Dehydrogenase：以下、DPDともいう）の作用により5-フルオロジヒドロウラシル（5-Fluoro Dihydrouracil：以下、FDHUともいう）となり、次いでジヒドロピリミジンナーゼ（Dihydropyrimidenase：以下、DHPaseともいう）の作用によりフルオロ-β-アラニンに代謝され、尿中に排泄される（図1参照）。

投与された5-FUの約80%はこの代謝系で分解され（Cancer (Phila), 68, 499-501, 1991）、さらにこの代謝系の律速酵素はDPDであることが報告されて

30

いる (Cancer Res., 47: 2203-2206, 1987)。よって、DPDを欠損したりDPD活性が低下しているいわゆるピリミジン代謝異常患者に5-FUを投与すると、その血中濃度が異常に高値となり重篤な副作用 (骨髄抑制や消化器症状など) を引き起こす可能性がある (Cancer. Inves. 11 (2): 239-240, 1993)。また、DPD

5 活性は個人差が大きく、男女などの性別によっても異なることが知られている (J. Clin. Oncol., 12: 2248-2253, 1994 ; Adv. Exp. Med. Biol., 431: 811-816, 1998)。このため、欧米においては、5-FUの副作用を防止するため、DPD欠損やDPD活性低下について個々に診断する必要性が提起されている。

DPD欠損症については、現在、末梢血単核球のDPD活性を測定する診断法

10 が確立されているが (Cancer Res., 53: 5433-5438, 1993 ; Pharmacogenetics. 4: 301-306, 1994 ; J. Inherited. Metab. Dis., 16: 574-576, 1993)、その測定には放射性物質の使用や煩雑な前処理を必要とするため、5-FU投与患者に対するスクリーニングには適していない。

また近年の遺伝子解析技術の進歩によって、DPD遺伝子の欠損が容易に判定

15 できるようになり、さらにDPD活性低下の原因となるDPD遺伝子の多型が多数報告されている。しかしながら、かかるDPDの遺伝子多型とその活性との相関関係は未だ解明されておらず、DPD活性、特にその活性の程度を遺伝子レベルで評価することは甚だ困難である。

5-FU療法の有効性が確認され、さらにDPD活性を阻害する種々の薬物との併用による5-FUの増強療法が進められている現代の状況の中で、ピリミジン代謝異常症の患者において5-FU療法の副作用を予知し、事前に防止するためにも、5-FU療法前にこれらの代謝異常症の有無が簡便に判定できるスクリーニング方法の開発が求められている。

20

25 発明の開示

本発明は、ピリミジン代謝経路にて分解される5-FUを始めとする各種のピリミジン系薬物に対する個々被験者の感受性、具体的には生体内のピリミジン代謝活性を判断するのに有用な製剤を提供することを目的とする。また本発明は、

当該個々被験者の生体内のピリミジン代謝活性を呼気や尿を利用して簡便に測定

30 できるピリミジン代謝活性測定製剤を提供することを目的とする。また、本発明

は、かかる製剤を利用して生体内のピリミジン代謝活性を簡便に測定する方法を提供することを目的とする。

- さらに本発明は、上記製剤を利用して個々の生体内ピリミジン代謝活性を簡便に評価する方法を提供することを目的とする。また本発明は、当該評価方法をピリミジン系薬物の投与前に実施することによって個々被験者のピリミジン系薬物に対する感受性を予め知得し、その個々の感受性に応じてピリミジン系薬物の投薬方法を設定する方法を提供することを目的とする。

- 本発明者は、ピリミジン代謝系酵素の基質となるピリミジン化合物は、体内でこれらの酵素の作用により分解されて一部が CO_2 として呼気に排出され、他が主として尿中に排泄されるという代謝動態に着目して、日夜検討を重ねていたところ、当該基質を同位体で標識することによってかかる代謝産物の排泄挙動を正確に測定することができ、その排泄挙動から個々被験者のピリミジン代謝活性を簡便に評価することができることを見出した。そして、本発明者らはかかるピリミジン代謝活性の測定方法によって、5-FUを始めとする各種のピリミジン系薬物に対する個々被験者の感受性（ピリミジン系薬物代謝能）が簡単に評価でき、これによってピリミジン代謝異常症の患者におけるピリミジン系薬物の副作用を予知することが可能であることを確認した。本発明はかかる知見に基づき完成されたものである。

- すなわち本発明は、下記項1～項6に掲げるピリミジン代謝活性測定製剤である：

- 項1. C、OまたはNの少なくとも1つが同位体で標識されたピリミジン化合物またはその代謝物を有効成分として含有する、ピリミジン代謝活性測定製剤。
- 項2. ピリミジン化合物またはその代謝物がピリミジン代謝系酵素の基質となるものまたはその前駆体である項1記載のピリミジン代謝活性測定製剤。
- 項3. ピリミジン代謝系酵素がジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ、ジヒドロピリミジナーゼ及び β -ウレイドプロピオナーゼよりなる群から選択される少なくとも1種である項2に記載のピリミジン代謝活性測定製剤。
- 項4. ピリミジン化合物またはその代謝物が、5-フルオロウラシル、ウラシル、チミン、5-フルオロジヒドロウラシル、ジヒドロウラシル、ジヒドロチミン、フルオロー β -ウレイドプロピオン酸、 β -ウレイドプロピオン酸、 β -ウレイ

ドイソ酪酸、ドキシフルリジン、テガフル及びカルモフルよりなる群から選択される少なくとも1種である項1乃至3に記載のピリミジン代謝活性測定製剤。
 項5. CまたはOの少なくとも1つが同位体で標識されたピリミジン化合物またはその代謝物が、投与後、体内で同位体標識CO₂になるものである項1乃至4
 5 のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤。

項6. 同位体が¹³C、¹⁴C、¹⁸O及び¹⁵Nからなる群から選択されるいずれか少なくとも一種である、項1乃至5のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤。

また本発明は、下記項7～項10に掲げる生体におけるピリミジン代謝活性の
 10 測定方法である：

項7. 項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し、同位体標識代謝産物の挙動を測定することを特徴とするピリミジン代謝活性の測定方法。

項8. 項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し、体外に排泄される同位体標識代謝産物の排出挙動を測定することを特徴とするピリミジン代謝活性の測定方法。
 15

項9. 項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し、呼気中に排出される同位体標識CO₂挙動を測定することを特徴とするピリミジン代謝活性の測定方法。

項10. 測定するピリミジン代謝活性が、ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ、ジヒドロピリミジナーゼ及びβ-ウレイドプロピオナーゼよりなる群から選択される少なくとも1つのピリミジン代謝系酵素の活性である項7乃至9のいずれかに記載のピリミジン代謝活性の測定方法。
 20

さらに本発明は、下記項11～項13に掲げる個々被験者のピリミジン代謝活性の評価方法である：
 25

項11. 項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し、同位体標識代謝産物の挙動を測定し、当該得られる被験者の排出挙動を健常者の排出挙動と対比することからなる、被験者のピリミジン代謝活性の評価方法。

30 項12. 項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に

投与し体外に排出される同位体標識代謝産物の排出挙動を測定し、当該得られる被験者の排出挙動を健常者の排出挙動と対比することからなる、被験者のピリミジン代謝活性の評価方法。

- 5 項13. 項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し呼気中に排出される同位体標識 CO_2 の排出挙動を測定し、当該得られる被験者の CO_2 排出挙動を健常者の CO_2 排出挙動と対比することからなる、被験者のピリミジン代謝活性の評価方法。

またさらに本発明は、下記項14～項15に掲げるピリミジン系薬物の投薬設定方法である：

- 10 項14. ピリミジン系薬物投与対象患者を被験者として、ピリミジン系薬物投与前に、予め項11乃至13のいずれかに記載の方法に従って被験者のピリミジン代謝活性を評価し、得られたピリミジン代謝活性から該被験者に対するピリミジン系薬物の投与方法を設定する、ピリミジン系薬物の投薬設定方法。
- 15 項15. ピリミジン系薬物が、5-フルオロウラシル、テガフル、カルモフル及びドキシフルリジンよりなる群から選択されるフルオロウラシル系薬物である、項14記載のピリミジン系薬物の投薬設定方法。

図面の簡単な説明

- 20 図1は、ピリミジン化合物（ウラシル、5-フルオロウラシル(5-FU)、チミン）のピリミジン代謝系酵素（ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ(DPD)、ジヒドロピリミジナーゼ(DHPase)及び β -ウレイドプロピオナーゼ(β -UPase))による代謝挙動を示す図である。

- 25 図2は、実施例1において本発明製剤を被験動物に静注投与した実験結果を示す図である。健常動物にウラシル-2- ^{13}C を静注投与した場合と(—◆—)、ウラシル代謝異常モデル動物にウラシル-2- ^{13}C を静注投与した場合(—■—)とで呼気に排泄される $^{13}\text{CO}_2$ の挙動を経時的に観察した結果を示す。

- 30 図3は、実施例2において本発明製剤を被験動物に経口投与した実験結果を示す図である。健常動物にウラシル-2- ^{13}C を経口投与した場合と(—◆—)、ウラシル代謝異常モデル動物にウラシル-2- ^{13}C を経口投与した場合(—■—)とで呼気に排泄される $^{13}\text{CO}_2$ の挙動を経時的に観察した結果を示す。

発明を実施するための最良の形態

(1) ピリミジン代謝活性測定製剤

5 本発明のピリミジン代謝活性測定製剤は、C、OまたはNの少なくとも1つが同位体で標識されてなるピリミジン化合物またはその代謝物を有効成分として含有するものであることを特徴とする。

本発明で用いられるピリミジン化合物またはその代謝物としては、ピリミジン代謝系酵素の基質となるものを挙げることができる。ここでピリミジン代謝系酵素としては、生体内におけるピリミジン代謝（ピリミジン分解）に寄与する一連の酵素を挙げることができ、具体的にはジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ(DPD)、及びジヒドロピリミジナーゼ(DHase)及びβ-ウレイドプロピオナーゼが例示される。

これらの酵素の基質となるピリミジン化合物またはその代謝物としては、具体的にはDPDの基質としてウラシル、チミン及びそれらの誘導体、DHaseの基質としてジヒドロウラシル、ジヒドロチミン及びそれらの誘導体、β-ウレイドプロピオナーゼの基質としてβ-ウレイドプロピオン酸、β-ウレイドイソ酪酸及びそれらの誘導体を例示することができる。なお、ここで誘導体とはDPD、DHaseまたはβ-ウレイドプロピオナーゼの基質となり、これらの酵素で分解された後、さらに生体内で分解されて生じる最終産物が呼気もしくは尿等の体液から排泄されるようなものであればよく、その限りにおいて特に制限されない。好ましくは生体への投与によって生体に悪影響を与えないものである。

また、当該ピリミジン化合物には、上記ピリミジン代謝系酵素の直接の基質となるピリミジン化合物（以下、基質化合物ともいう）以外に、間接的にその基質となるもの、すなわち生体に投与された後、体内で代謝または分解されてピリミジン代謝系酵素の基質となる所謂前駆体も含まれる。例えば、かかる前駆体としてはピリミジン化合物（基質化合物）のプロドラッグ体等を挙げることができる。具体的には、シトシン、5-メチルシトシン、テガフル、カルモフル、及びドキシフルリジン等が例示できる。

これらのピリミジン化合物またはその代謝物は、その分子内のC、OまたはNの少なくとも1つが同位体で標識されてなることを特徴とする。かかる同位体と

としては具体的には ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{18}O または ^{15}N を挙げることができる。これらの同位体は1種単独で使用されても2種以上を任意に組み合わせて使用することもできる。かかる同位体は放射性及び非放射性の別を問わないが、安全性の観点からは非放射性同位体である ^{13}C 、 ^{18}O または ^{15}N が好ましい。

- 5 なお、本発明で用いるピリミジン化合物またはその代謝物は、その分子内に上記同位体を1つ有するものであっても、また同一種若しくは異種の同位体を2つ以上有するものであってもよい。制限はされないが、ピリミジン化合物またはその代謝物は、最終代謝産物として呼気中に排泄される CO_2 の少なくとも一部（CまたはO）が同位体標識されているように、同位体標識されていることが好ましい。
- 10 このようなピリミジン化合物としては、例えば2位のCが同位体で標識されているものを挙げることができる。

- ピリミジン化合物またはその代謝物をこれらの同位体で標識する方法としては、特に制限されず、通常使用される方法が広く採用される（佐々木、「5.1安定同位体の臨床診断への応用」：化学の領域107「安定同位体の医・薬学、生物学への応用」pp.149-163（1975）南江堂：梶原、RADIOISOTOPES, 41, 45-48（1992）等）。またこれらの同位体で標識された各種のピリミジン化合物またはその代謝物の一部は商業的に入手可能であり、簡便にはかかる市販品を使用することもできる。
- 15

- 本発明のピリミジン代謝活性測定製剤は、生体内のピリミジン代謝活性を測定するために好適に使用される。具体的には、ピリミジン代謝活性測定製剤によれば、被験者に投与した後、呼気中に排出される同位体標識 CO_2 を測定するかまたは尿等の体液中に排泄される同位体標識代謝産物を測定し、これから求められるそれら代謝産物の排泄挙動（排泄量、排泄速度またはその推移など）から生体内のピリミジン代謝活性を測定することができる。なお、尿等の体液を試料サンプルとする場合は、液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーなどの各種の分離分析技術を併用することにより、試料サンプル中に含まれる各種のピリミジン化合物、その代謝物及びこれらの代謝産物を一斉分析することができ、これらの各種化合物の量比等から生体内のピリミジン代謝活性を測定し評価することができる。
- 20
- 25

- 本発明のピリミジン代謝活性測定製剤は、本発明の目的に適うものであれば、その製剤形態を特に制限することなく、注射剤、静注剤、坐剤、点眼剤及び点鼻
- 30

剤等の非経口投与形態；液剤（シロップ剤を含む）、懸濁剤、乳剤、錠剤（裸剤、被覆剤を含む）、カプセル剤、丸剤、散剤、粉末剤、顆粒剤等などの経口投与形態を任意に採用することができる。

- 5 本発明のピリミジン代謝活性測定製剤は、実質上、有効成分である上記同位体標識ピリミジン化合物またはその代謝物だけからなるものであってもよいが、本発明の作用及び効果を損なわない限り、他の成分として、各製剤形態に応じて、通常当業界において用いられるあらゆる担体及び添加物を配合することもできる。

- 10 例えば錠剤の形態に成形するに際しては、担体として例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸等の賦形剤；単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、リン酸カリウム、ポリビニルピロリドン等の結合剤；乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸
- 15 モノグリセリド、デンプン、乳糖等の崩壊剤；白糖、ステアリン酸、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤；第4級アンモニウム塩基、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤；グリセリン、デンプン等の保湿剤；デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤；精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコール等の滑沢剤等を使用できる。更に錠剤は
- 20 必要に応じて通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、フィルムコーティング錠、二重錠、多層錠等とすることができる。

- 25 丸剤の形態に成形するに際しては、担体として例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルクなどの賦形剤、アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン等の結合剤；ラミナラン、カンテンなどの崩壊剤等を使用できる。

カプセル剤は常法に従い、通常本発明化合物を上記で例示した各種の担体と混合して硬化ゼラチンカプセル、軟質カプセル等に充填して調製される。

- 30 坐剤の形態に成形するに際しては、担体として例えばポリエチレングリコール、カカオ脂、高級アルコール、高級アルコールのエステル類、ゼラチン、半合成グリセライド等が使用できる。

注射剤として調製される場合、液剤、乳剤及び懸濁剤は殺菌され、且つ血液と等張であるのが好ましく、これらの形態に成形するに際しては、希釈剤として例えば水、エチルアルコール、マクロゴール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類等を使用できる。なお、この場合等張性の溶液を調製するに十分な量の食塩、ブドウ糖あるいはグリセリンを製剤中に含有させてもよく、また通常の溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤等を添加してもよい。

更に上記各製剤には、必要に応じて着色料、保存剤、香料、風味剤、矯臭剤、矯味剤、甘味料、安定化剤等の薬学的に許容される添加剤を配合することもできる。なお、上記各種担体や添加剤は1種または2種以上を任意に組み合わせて使用することができる。

本発明のピリミジン代謝活性測定製剤は、一連のピリミジン代謝系酵素が正常に機能している健常者に投与された場合に、有効成分として配合するピリミジン化合物若しくはその代謝物の種類に応じて、次のように代謝分解する(図1参照)。

例えばピリミジン代謝活性測定製剤の有効成分として、ピリミジン代謝系酵素の第1酵素であるDPDの基質となるウラシル(又はチミン)を用いた場合、当該ウラシル(又はチミン)は体内でDPDの作用によってジヒドロウラシル(又はジヒドロチミン)となり、次いでピリミジン代謝系酵素の第2酵素であるDHPaseの作用によって β -ウレイドプロピオン酸(又は β -ウレイドイソ酪酸)となり、さらに第3酵素である β -ウレイドプロピオナーゼの作用によって CO_2 と β -アラニン(又は β -アミノイソ酪酸)とに分解される。

またピリミジン代謝活性測定用組成物の有効成分として、ピリミジン代謝系酵素の第2酵素であるDHPaseの基質となるジヒドロウラシル(又はジヒドロチミン)を用いた場合、当該ジヒドロウラシル(又はジヒドロチミン)は体内でDHPaseの作用によって β -ウレイドプロピオン酸(又は β -ウレイドイソ酪酸)となり、さらに第3酵素である β -ウレイドプロピオナーゼの作用によって CO_2 と β -アラニン(又は β -アミノイソ酪酸)とに分解される。

またピリミジン代謝活性測定用組成物の有効成分として、ピリミジン代謝系酵素の第3酵素である β -ウレイドプロピオナーゼの基質となる β -ウレイドプロピオン酸(又は β -ウレイドイソ酪酸)を用いた場合、当該 β -ウレイドプロピ

オン酸（又は β -ウレイドイソ酪酸）は体内で β -ウレイドプロピオナーゼの作用によって CO_2 と β -アラニン（又は β -アミノイソ酪酸）とに分解される。

- こうして代謝生成された最終代謝産物 CO_2 は呼気中に、また β -アラニン（又は β -アミノイソ酪酸）は主として尿中に排泄される。このとき最終代謝産物は、
- 5 有効成分であるピリミジン化合物またはその代謝物の同位体標識部位に応じて、 CO_2 または β -アラニン（又は β -アミノイソ酪酸）の少なくとも一方が同位体で標識されている。よって、かかる同位体標識を指標として、 CO_2 が標識されている場合は呼気を、また β -アラニン（又は β -アミノイソ酪酸）が標識されている場合は尿をサンプルとして、その排泄挙動（排泄量、排泄速度またはこれら
- 10 の推移等）を測定することができ、これから生体内のピリミジン代謝活性を評価することが可能である。さらに、尿には上記最終代謝産物だけでなく、個々のピロミジン代謝活性に応じて、ピリミジン化合物やその代謝物等の投与化合物及び／またはそれらの代謝中間産物が種々排泄される。従って、尿を試料サンプルとする場合は、各種の分離分析技術を併用することによって試料サンプル中に
- 15 含まれる各種の化合物を一斉分析することが好ましく、得られる各種化合物の量比等から生体内のピリミジン代謝活性を総合的に評価することができる。

- 本発明のピリミジン代謝活性測定製剤の投与単位形態中に配合される同位体標識化合物（有効成分）の量は、測定サンプル及び該同位体標識化合物の種類などによって異なるため、一概に定めることができずケースに応じて適宜調節設定す
- 20 ることができる。例えば、同位体標識化合物として ^{13}C 標識ウラシルを用い、呼気中に排泄される $^{13}\text{CO}_2$ 量を測定するために、呼気テスト用にデザインされたピリミジン代謝活性測定製剤の場合、単位投与あたりの組成物中に ^{13}C 標識ウラシルを $1\text{mg} \sim 1\text{g}$ 、好ましくは $10 \sim 100\text{mg}$ の範囲で含むことが好ましい。

25 (2) ピリミジン代謝活性測定方法

- 本発明はまた生体内のピリミジン代謝活性を測定する方法である。当該ピリミジン代謝活性の測定は、前述するピリミジン代謝活性測定製剤を用いることによって簡便に実施することができる。

- 具体的には、生体内のピリミジン代謝活性は、前述するピリミジン代謝活性測定製剤を動物またはヒトなどのピリミジン代謝活性の測定対象物（被験者）に投
- 30

5 なお採取サンプル中に含まれる同位体標識物の測定・分析は、使用する同位体が放射性か非放射性かによって異なるが、液体シンチレーションカウンタ法、質量分析法、赤外分光分析法、発光分析法、磁気共鳴スペクトル法等といった一般に使用される分析手法を用いて行うことができる。

15 なお、本発明の測定方法において測定サンプルをいずれにするかは、投与する
ピリミジン化合物またはその代謝物の同位体標識部位に応じて生じる同位体標識
化代謝産物の種類によって選択することができる。すなわち同位体標識化された
最終代謝産物が CO_2 である場合は呼気が、 β -アラニンまたはその他の代謝産
物である場合は尿が好適に使用される。好適な測定サンプルは、サンプルの採取
20 が簡単である点からは呼気、多種類含まれる代謝産物を一斉分析できる点からは
尿である。

25 この場合、前述する本発明のピリミジン代謝活性測定製剤のうち、最終代謝産物として同位体標識CO₂を生じるようにデザインされた同位体標識ピリミジン化合物またはその代謝物を有効成分とする製剤が使用される。かかる同位体標識ピリミジン化合物としては、具体的には2位のCが同位体標識されてなるピリミジン化合物を例示することができる。

30 同位元素として ^{13}C を用いた場合、呼気中に排泄される $^{13}\text{CO}_2$ の量は慣用の $^{12}\text{CO}_2$ の量の約1.1%である。

^{13}C 呼気検査法に従って測定することができる。具体的には、本発明のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与した後、経時的に呼気を採取して、呼気中に排泄される $^{13}\text{C}\text{O}_2$ の排泄挙動（排泄量、排泄速度、またはその推移）から、投与したピリミジン化合物に対する生体内の代謝活性を測定評価することができる。

- 5 本発明のピリミジン代謝活性の測定方法によれば、ピリミジン代謝活性測定製剤に配合する有効成分を選択調整することによって、生体のピリミジン代謝に寄与するピリミジン代謝系酵素の活性を、個々またはトータルの測定し、評価することができる。

- 10 例えば、(i)有効成分としてウラシルやチミンまたはそれらの前駆体等のDPDの基質となるものを使用した場合は、主として生体内におけるDPDの活性が測定でき、(ii)有効成分としてジヒドロウラシルやジヒドロチミン等のDHPaseの基質となるものを使用した場合は、主として生体内におけるDHPaseの活性が測定でき、また(iii)有効成分として β -ウレイドプロピオン酸や β -ウレイドイソ酪酸等の β -ウレイドプロピオナーゼの基質となるものを使用した場合は、生体内における β -ウレイドプロピオナーゼの活性が測定できる。生体内のDPDの活性の評価には、基本的には上記(i)の測定で十分であるが、より正確なDPD活性を評価するためには、上記(i)によって得られるDPD活性に(ii)及び(iii)で得られるDHPase活性及び β -ウレイドプロピオナーゼ活性を勘案することができる。また同様に、生体内のDHPase活性の評価には、基本的には上記(ii)の測定で十分であるが、より正確なDHPase活性を評価するためには、上記(ii)によって得られるDPD活性に、(iii)で得られる β -ウレイドプロピオナーゼ活性を勘案することができる。

- 25 なお、測定サンプルとして尿を使用する場合は、ピリミジン代謝活性測定製剤として、有効成分がDPDの基質となるものを用い、液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーなどの各種の分離分析技術を併用して尿中に含まれる代謝産物を測定することが好ましい。かかる方法によれば、尿中に排泄されるピリミジン化合物の各種の代謝産物を一斉に分離分析することができるので、排泄されたこれらの代謝産物の量比等から、ピリミジン代謝系酵素の活性を個々の酵素毎に又はトータルとして測定評価することができる。

- 30 上記の本発明のピリミジン代謝活性の測定方法によれば、生体内のピリミジン

代謝系酵素の活性を酵素毎にまたトータル的に評価することができる。この点から、本発明は個々の被験者の生体内のピリミジン代謝活性を評価する方法を提供するものでもある。

5 生体内のピリミジン代謝活性の評価は、前述する本発明のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し、尿や呼気または血液等の体液中に排泄される同位体標識代謝産物の排泄挙動を測定し、当該得られる被験者の排泄挙動を健常者の排泄挙動と対比することによって行うことができる。

好ましくは、被験者の呼気中に排出される同位体標識 CO_2 の排泄挙動を測定し、それを健常者の排出挙動と対比することによって行う方法が採用される。この場合、呼気中の同位体標識 CO_2 （例えば $^{13}\text{CO}_2$ ）の排泄挙動（排泄量、排泄速度、またはその推移など）は、本発明のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与後、呼気中に排泄される炭酸ガス $^{12}\text{CO}_2$ あたりの $^{13}\text{CO}_2$ ガスの割合（ $^{13}\text{CO}_2 / ^{12}\text{CO}_2$ 濃度比： $\delta^{13}\text{C}$ 値）を経時的に測定し、該 $\delta^{13}\text{C}$ 値と製剤投与前の $\delta^{13}\text{C}$ 値との差である炭酸ガス Δ （‰）の値から評価判定することができる。

15 本発明の評価方法で得られた各被験者のピリミジン代謝活性から、該被験者のピリミジン系薬物に対する感受性を推定することができる。このため、本発明の評価方法は、ピリミジン系薬物投与対象の患者について予めピリミジン系薬物に対する感受性をスクリーニング方法として有用に使用できる。

すなわち本発明は、ピリミジン系薬物投与対象患者を被験者として、ピリミジン系薬物投与前に、予め上記の評価方法に従って被験者のピリミジン代謝活性を評価し、得られたピリミジン代謝活性から該被験者に対するピリミジン系薬物の投与方法（製剤処方（薬物の種類、配合調製等）、投与量、投与回数等）を設定する方法を提供するものである。なお、ピリミジン系薬物としては、従来より抗癌剤として使用されている5-フルオロウラシル、テガフル、カルモフルまたはドキシフルリジンなどのフルオロウラシル系薬物を例示することができる。

本発明の方法によれば、事前に被験者の生体内におけるピリミジン系薬物に対する分解能を評価することができるので、DPD欠損症やDPD活性低下症などのピリミジン代謝異常症の患者におけるピリミジン系薬物、特に上記フルオロウラシル系薬物の副作用の予知を行い、その発生を防止することができる。すなわち、本発明の方法は、フルオロウラシル系薬物投与前に実施される該薬物感受性

のスクリーニング方法として有用である。

実施例

- 以下に実施例を掲げて、本発明をより一層明らかにする。ただし、本発明はこ
5 の実施例によって何ら制限されるものではない。

実施例 1

- 同位体標識されたピリミジン化合物として 2 位の炭素を ^{13}C で標識したウラシル (ウラシル-2- ^{13}C) を用いて、かかるウラシル-2- ^{13}C を有効成分とする製剤を静注投与形態のピリミジン代謝活性測定製剤としてピリミジン代謝活性測定
10 に対する有用性を検討した。

(1) ピリミジン代謝活性測定製剤の調製

- ウラシル-2- ^{13}C (Cambridge Isotope Laboratory 製) 300mg を、0.1N-NaOH/saline 溶液 (10N 水酸化ナトリウム溶液 2ml に生理食塩水を加えて 200ml に調整) 24ml に溶解し、注射剤としてピリミジン代謝活性測定製剤を調製した (注射液 4ml に 50mg のウラシル-2- ^{13}C を含む)。
15

(2) (E)-5-(2-プロモピニル)-ウラシル製剤の調製

- (E)-5-(2-プロモピニル)-ウラシルは、体内でウラシルと競合してジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ (DPD) の基質となる、いわゆるウラシル拮抗代謝阻害剤である (Cancer Research 46, 1094-1101, March 1986, pp.1094-1101)。当該 (E)-5-(2-プロモピニル)-ウラシル 250mg とアラビアゴム 2.25g を混合し、少量の水を添加しながら練合し、45ml のサスペンションとして調製した (サスペンション 15ml に 83.3mg の (E)-5-(2-プロモピニル)-ウラシルを含む)。
20

(3) 実験

- 被験動物として絶食させたビーグル犬を用い、1 群 ($n=3$) にピリミジン代謝活性測定製剤を静脈内投与し (50mg/body) (実施群)、2 群 ($n=3$) は先に (E)-5-(2-プロモピニル)-ウラシル製剤を経口投与し (83.3mg/body)、1 時間後に 1 群と同様に、ピリミジン代謝活性測定製剤を静脈内投与した (50mg/body) (比較群：ウラシル代謝異常モデル動物)。次いで、両群とも、ピリミジン代謝活性測定製剤の投与前と投与後 (15分, 30分, 45分, 60分, 75分, 90分, 105分, 120分, 135分, 150分, 180分, 210分, 240分) の各時点で呼気を採取し、呼気中に排泄された ^{13}C
25
30

C-炭酸ガスの濃度をGC-MS分析装置 (ABCA-G、Europa Scientific社製) を用いて測定した。実施群の結果 (—◆—) と比較群 (—■—) の結果を合わせて図2に示す。なお図中、縦軸は、ピリミジン代謝活性測定製剤投与前の呼気サンプルの $\delta^{13}\text{C}$ 値 (‰) (呼気中 $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ 濃度比) と製剤投与後の各採取時の呼気サンプルの $\delta^{13}\text{C}$ 値 (‰) との差である $\Delta^{13}\text{C}$ 値 (‰) を示す。

図からわかるように、実施群ではウラシル- $2\text{-}^{13}\text{C}$ が代謝されて呼気中に $^{13}\text{CO}_2$ が排泄されるのが観察されたが、人為的に作成したウラシル代謝異常モデル動物 (比較群) では呼気中への $^{13}\text{CO}_2$ の排泄が著しく低下し、このことからウラシル- $2\text{-}^{13}\text{C}$ が正常に代謝されず、ウラシル- $2\text{-}^{13}\text{C}$ が体内に蓄積されていることがうかがわれた。

実施例 2

実施例 1 で用いたウラシル- $2\text{-}^{13}\text{C}$ を有効成分として経口投与形態のピリミジン代謝活性測定製剤を調製し、該経口投与製剤のピリミジン代謝活性測定に対する有用性を検討した。

(1) ピリミジン代謝活性測定製剤の調製

ウラシル- $2\text{-}^{13}\text{C}$ (Cambridge Isotope Laboratory 製) 300mg を、0.1N-NaOH/saline 溶液 (10N 水酸化ナトリウム溶液 2ml に生理食塩水を加えて 200ml に調整) 24ml に溶解し、水を加えて 60ml の経口用液剤としてピリミジン代謝活性測定製剤を調製した (経口用液剤 10ml に 50mg のウラシル- $2\text{-}^{13}\text{C}$ を含む)。

(2) 実験

被験動物として絶食させたビーグル犬を用い、1群 (n=3) に上記 (1) で調製したピリミジン代謝活性測定製剤を経口投与し (50mg/10ml/body) (実施群)、2群 (n=3) は先に、実施例 1 (2) と同様にして調製した (E)-5-(2-プロモビニル)-ウラシル製剤を経口投与し (83.3mg/15ml/body)、1時間後に 1群と同様にピリミジン代謝活性測定製剤を経口投与した (50mg/10ml/body) (比較群: ウラシル代謝異常モデル動物)。なお、実施群も比較群も、ピリミジン代謝活性測定製剤を経口投与した後、残った試薬を洗い流す目的で、該投与に用いたソンドを用いて更に水 10ml を強制経口投与した。次いで、両群とも、ピリミジン代謝活性

測定製剤の投与前と投与後（15分, 30分, 45分, 60分, 75分, 90分, 105分, 120分, 135分, 150分, 180分, 210分, 240分）の各時点で呼気を採取し、呼気中に排泄された ^{13}C -炭酸ガスの濃度を、実施例1と同様にしてGC-MS分析装置（ABCA-G、Europa Scientific社製）を用いて測定した。実施群の結果（—◆—）と比較群（—■—）

5 の結果を合わせて図3に示す。

図からわかるように、静注投与（実施例1）の場合と同様に、経口投与した場合でも、本発明のピリミジン代謝活性測定製剤（実施群）によるとウラシル-2- ^{13}C が代謝されて呼気中に $^{13}\text{CO}_2$ が排泄され、一方、人為的に作成したウラシル代謝異常モデル動物（比較群）では呼気中への $^{13}\text{CO}_2$ の排泄が著しく低下する

10 のが観察された。これらのことから、本発明の製剤は、その投与形態にかかわらず、生体内におけるピリミジンの代謝活性を呼気を利用して簡便且つ精度良く測定するのに有用であることがわかる。

請 求 の 範 囲

1. C、OまたはNの少なくとも1つが同位体で標識されたピリミジン化合物またはその代謝物を有効成分として含有する、ピリミジン代謝活性測定製剤。
- 5 2. ピリミジン化合物またはその代謝物がピリミジン代謝系酵素の基質となるものまたはその前駆体である請求項1記載のピリミジン代謝活性測定製剤。
3. ピリミジン代謝系酵素がジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ、ジヒドロピリミジンナーゼ及びβ-ウレイドプロピオンナーゼよりなる群から選択される少なくとも1種である請求項2に記載のピリミジン代謝活性測定製剤。
- 10 4. ピリミジン化合物またはその代謝物が、5-フルオロウラシル、ウラシル、チミン、5-フルオロジヒドロウラシル、ジヒドロウラシル、ジヒドロチミン、フルオロ-β-ウレイドプロピオン酸、β-ウレイドプロピオン酸、β-ウレイドイソ酪酸、ドキシフルリジン、テガフル及びカルモフルよりなる群から選択される少なくとも1種である請求項1乃至3に記載のピリミジン代謝活性測定製剤。
- 15 5. CまたはOの少なくとも1つが同位体で標識されたピリミジン化合物またはその代謝物が、投与後、体内で同位体標識CO₂を生じるものである請求項1乃至4のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤。
- 20 6. 同位体が¹³C、¹⁴C、¹⁸O及び¹⁵Nからなる群から選択されるいずれか少なくとも一種である、請求項1乃至5のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤。
7. 請求項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し、同位体標識代謝産物の挙動を測定することを特徴とするピリミジン代謝活性の測定方法。
- 25 8. 請求項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し、体外に排泄される同位体標識代謝産物の排出挙動を測定することを特徴とするピリミジン代謝活性の測定方法。
9. 請求項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し、呼気中に排出される同位体標識CO₂挙動を測定することを特徴とするピリミジン代謝活性の測定方法。
- 30

10. 測定するピリミジン代謝活性が、ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ、ジヒドロピリミジナーゼ及び β -ウレイドプロピオナーゼよりなる群から選択される少なくとも1つのピリミジン代謝系酵素の活性である請求項7または8に記載のピリミジン代謝活性の測定方法。

- 5 11. 請求項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し、同位体標識代謝産物の挙動を測定し、当該得られる被験者の排出挙動を健常者の排出挙動と対比することからなる、被験者のピリミジン代謝活性の評価方法。

- 10 12. 請求項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し体外に排出される同位体標識代謝産物の排出挙動を測定し、当該得られる被験者の排出挙動を健常者の排出挙動と対比することからなる、被験者のピリミジン代謝活性の評価方法。

- 15 13. 請求項1乃至6のいずれかに記載のピリミジン代謝活性測定製剤を被験者に投与し、呼気中に排出される同位体標識 CO_2 の排出挙動を測定し、当該得られる被験者の CO_2 排出挙動を健常者の CO_2 排出挙動と対比することからなる、被験者のピリミジン代謝活性の評価方法。

- 20 14. ピリミジン系薬物投与対象患者を被験者として、ピリミジン系薬物投与前に、予め請求項10または11記載の方法に従って被験者のピリミジン代謝活性を評価し、得られたピリミジン代謝活性から該被験者に対するピリミジン系薬物の投与方法を設定する、ピリミジン系薬物の投薬設定方法。

15. ピリミジン系薬物が、5-フルオロウラシル、テガフル、カルモフル及びドキシフルリジンよりなる群から選択されるフルオロウラシル系薬物である、請求項14記載のピリミジン系薬物の投薬設定方法。

要 約 書

- 5 ピリミジン代謝経路にて分解される5-FUを始めとする各種のピリミジン系薬物に対する被験者個々の感受性、具体的には生体内のピリミジン代謝活性を評価するための方法、並びに該評価に有用な測定製剤を提供する。本発明は、ピリミジン代謝系酵素の基質となる、C、OまたはNの少なくとも1つが同位体で標識されたピリミジン化合物またはその代謝物を有効成分として含有するピリミジン代謝活性測定製剤を投与して、排泄される代謝産物の量から生体内のピリミジン代謝活性を評価することによって実施できる。

05025434.001404